









GLYCOSAMINOGLYCAN-POLYCATION COMPLEX CROSSLINKED BY POLYFUNCTIONAL CROSSLINKING AGENT AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

Patent number: WO03028781
Publication date: 2003-04-10
Inventor: TANAKA JUNZO (JP); TAGUCHI TETSUSHI (JP);
MIYAZAKI TADASUKE (JP); SAKURA YOSHIYUKI (JP);
OHTSUKA TATSURO (JP); MANDAI YOSHINOBU (JP)
Applicant: JAPAN SCIENCE & TECH CORP (JP); NAT INST FOR
MATERIALS SCIENCE (JP); NITTA GELATIN KK (JP);
TANAKA JUNZO (JP); TAGUCHI TETSUSHI (JP);
MIYAZAKI TADASUKE (JP); SAKURA YOSHIYUKI (JP);
OHTSUKA TATSURO (JP); MANDAI YOSHINOBU (JP)
Classification:
- international: *A61L27/20; A61L27/26; A61L27/38; A61L27/44;
A61L27/48; A61L27/50; C08B37/00; C08B37/08;
C08G65/322; C08G65/329; C08G65/333; C08H1/06;
A61L27/00; C08B37/00; C08G65/00; C08H1/00; (IPC1-
7): A61L27/20; A61L27/44; A61L27/50; A61P19/02;
C08B37/00; C08G65/322; C12M3/00*
- european: A61L27/20; A61L27/26; A61L27/38; A61L27/44;
A61L27/48; A61L27/50; C08B37/00P2; C08B37/00P2D;
C08B37/00P2F; C08G65/322; C08G65/329;
C08G65/333H4; C08H1/06
Application number: WO2002JP07824 20020731
Priority number(s): JP20010250856 20010821

Also published as:

 EP1419792 (A1)
 US2005053576 (A1)
 JP2003055401 (A)
 CA2458351 (A1)

Cited documents:

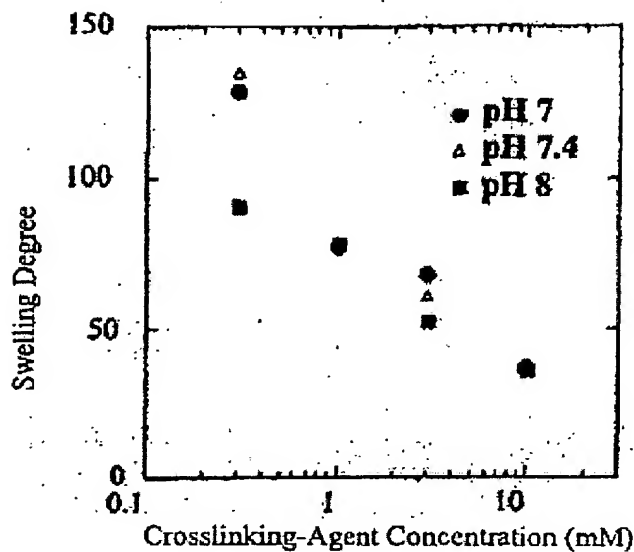
 EP0656215
 WO9722372
 EP0680990
 EP0732109

Report a data error here

Abstract of WO03028781

In a conventional process for producing a glycosaminoglycan-polycation complex to be used in producing tissue regeneration matrixes for cartilage, etc., a crosslinking reaction is carried out in an alcohol or water. Therefore, it is feared that an injectable crosslinked biological substance might exert an undesirable effect cell death on cells and tissues. Moreover, a polyion complex a non-homogeneous precipitate is formed in this case. A glycosaminoglycan-polycation complex is formed by crosslinking glycosaminoglycan and polycation under physiological conditions with the use of 0.3 to 3 mM of a crosslinking agent which has two or more electrophilic leaving groups for example, succinimidyl group or its derivative at the carboxyl end of polyethylene glycol. Since the synthesis can be carried out under physiological conditions, the crosslinking can be achieved by preliminarily mixing the cells.

Fig. 1



Data supplied from the *esp@cenet* database - Worldwide

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 4 月 10 日 (10.04.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/028781 A1

(51) 国際特許分類⁷: A61L 27/20, 27/44, 27/50, C08G 65/322, C12M 3/00, C08B 37/00, A61P 19/02

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/07824

(22) 国際出願日: 2002 年 7 月 31 日 (31.07.2002)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2001-250856 2001 年 8 月 21 日 (21.08.2001) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県 川口市 本町 4-1-8 Saitama (JP). 独立行政法人物質・材料研究機構 (NATIONAL INSTITUTE FOR MATERIALS

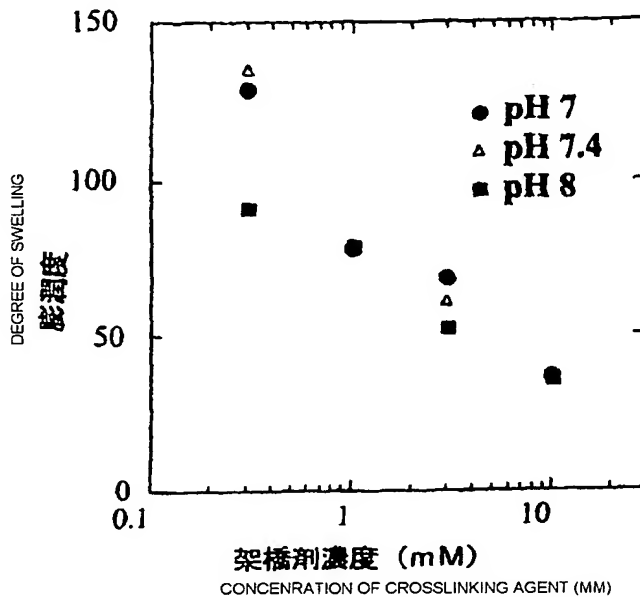
SCIENCE) [JP/JP]; 〒305-0047 茨城県 つくば市 千現 1 丁目 2-1 Ibaraki (JP). 新田ゼラチン株式会社 (NITTA GELATIN INC.) [JP/JP]; 〒556-0022 大阪府 大阪市 浪速区 桜川 4-4-2 6 Osaka (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 田中 順三 (TANAKA, Junzo) [JP/JP]; 〒305-0032 茨城県 つくば市 鹿島台 3-6 Ibaraki (JP). 田口 哲志 (TAGUCHI, Tetsushi) [JP/JP]; 〒305-0032 茨城県 つくば市 稲荷前 1 9-8 スプリーム成城 B 205 Ibaraki (JP). 宮崎 匡輔 (MIYAZAKI, Tadasuke) [JP/JP]; 〒192-0904 東京都 八王子市 子安町 3-3 3-3 Tokyo (JP). 佐倉 義幸 (SAKURA, Yoshiyuki) [JP/JP]; 〒236-0014 神奈川県 横浜市 金沢区 寺前 1-1 8-1 5 Kanagawa (JP). 大塚 龍郎 (OHTSUKA, Tatsuro) [JP/JP]; 〒660-0052 兵庫県 尼崎市 七松町 1-3-2-2 4 0 4 Hyogo (JP). 萬代 佳宣 (MANDAI, Yoshinobu) [JP/JP]; 〒581-0042 大阪府 八尾市 南木ノ本 2-7 7-1 4 Osaka (JP).

[続葉有]

(54) Title: GLYCOSAMINOGLYCAN-POLYCATION COMPLEX CROSSLINKED BY POLYFUNCTIONAL CROSSLINKING AGENT AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: 多官能性架橋剤によって架橋したグリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体とその製造法



(57) Abstract: In a conventional process for producing a glycosaminoglycan-polycation complex to be used in producing tissue regeneration matrixes for cartilage, etc., a crosslinking reaction is carried out in an alcohol or water. Therefore, it is feared that an injectable crosslinked biological substance might exert an undesirable effect (cell death) on cells and tissues. Moreover, a polyion complex (a non-homogeneous precipitate) is formed in this case. A glycosaminoglycan-polycation complex is formed by crosslinking glycosaminoglycan and polycation under physiological conditions with the use of 0.3 to 3 mM of a crosslinking agent which has two or more electrophilic leaving groups (for example, succinimidyl group or its derivative) at the carboxyl end of polyethylene glycol. Since the synthesis can be carried out under physiological conditions, the crosslinking can be achieved by preliminarily mixing the cells.

[続葉有]

WO 03/028781 A1



(74) 代理人: 西 義之 (NISHI, Yoshiyuki); 〒235-0036 神奈川県 横浜市 磯子区中原 4-2 6-3 2-2 1 1 西 特許事務所 Kanagawa (JP).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

(81) 指定国 (国内): CA, US.

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR).

(57) 要約:

軟骨などの組織再生マトリックス用材料であるグリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体の従来の製造法は、アルコール中あるいは水中で架橋反応を行うため、注入可能な架橋生体物質組成物は、細胞および組織への悪影響（細胞死）が考えられる。また、ポリイオンコンプレックス（不均一な沈殿）が形成される。

ポリエチレングリコールのカルボキシル末端に2個以上の求電子性脱離基（例えば、スクシンイミジル基またはその誘導体）を有する多官能性架橋剤を用い、架橋剤濃度0.3～3 mMでグリコサミノグリカンとポリカチオンとを生理的条件下で架橋形成を行いグリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体を合成する。生理的条件下で合成反応を行うことができるため、細胞を予め混合しておき、架橋反応を行うことが可能である。

明 細 書

1 多官能性架橋剤によって架橋したグリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体と
その製造法

技術分野

5 本発明は、多官能性架橋剤によって架橋形成した軟骨などの組織再生マトリックス用材料であるグリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体とその製造法に関する。

背景技術

10 関節軟骨は、一度損傷を受けると再生が非常に困難な生体組織であることが知られている。老化やスポーツ傷害によって引き起こされる変形性関節症の患者は、世界全体で約1000万人（国内で約120万人）と言われており、軟骨を再生させるための材料開発が強く望まれている。

15 従来、軟骨組織の主成分であるグリコサミノグリカン（ヒアルロン酸：HyA）またはコンドロイチン硫酸（ChS）とポリカチオン（コラーゲン：Col）からなる複合体の調製は、ポリイオンコンプレックスを化学架橋する方法が採られていた。

20 このような架橋生成物は、特開平8-34747号公報、特開平8-53548号公報、特表平8-502082号公報、特開平9-249751号公報、特表平10-501706号公報、特表平11-509256号公報、特表200

1 0-501975号公報、特表2000-502380号公報などに開示されて
いる。

上記の特開平9-249751号公報、特開平8-34747号公報、特表2
000-501975号公報などに開示されている方法では、アルコール中ある
5 いは水中で架橋反応を行うため、注入可能な架橋生体物質組成物は、細胞および
組織への悪影響（細胞死）が考えられる。そのためこのような問題を回避できる
架橋方法が求められている。

特表平10-501706号公報には、架橋形成したゲルに細胞を内包するこ
とが可能であると記載されている。しかしながら、水中では、浸透圧の違いによ
10 り細胞（膜）は破壊されてしまう。また、上述のように、コラーゲンとグリコサ
ミノグリカン在水中で共存させることは不可能なため、細胞を入れることも不可
能である。

また、特開平9-249751号公報には、コラーゲンとグリコサミノグリカ
ンを多官能性架橋剤で架橋可能との内容が記載されているが、コラーゲンとグリ
15 コサミノグリカンは水溶液中では、コラーゲンのプラスチャージとグリコサミノ
グリカンのマイナスチャージによってポリイオンコンプレックス（不均一な沈
殿）を形成するので現実的には不可能である。したがって、ポリイオンコンプレ
ックスを形成しない架橋方法が求められている。

20 発明の開示

本発明は、関節軟骨の細胞外マトリックスの主成分であるポリカチオンとグリ
コサミノグリカンとの新規な架橋複合体とその製造法を提供する。

1 すなわち、本発明は、ポリエチレングリコールのカルボキシル末端に2個以上の求電子性脱離基を有する多官能性架橋剤によって生理的条件下で均一に架橋形成した組織再生マトリックス用グリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体である。

5 また、本発明は、ポリエチレングリコールのカルボキシル末端に2個以上の求電子性脱離基を有する多官能性架橋剤を用い、架橋剤濃度0.3～3 mMでグリコサミノグリカンとポリカチオンとを生理的条件下で均一に架橋形成を行いグリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体を合成することを特徴とする上記のグリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体の製造法である。

10 また、本発明は、細胞を予め混合しておき、均一に架橋反応を行うことを特徴とする上記のグリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体の製造法である。

本発明の製造法によれば、生理的条件、すなわち、pH 7.0～8.0、37℃、0.1～0.2 M NaClの条件下で合成反応を行うことができるため、好ましくは、 $1 \times 10^3 \text{ cells/mL} \sim 1 \times 10^4 \text{ cells/mL}$ の細胞濃度範囲で細胞を予め混合しておき、架橋反応を行うことが可能である。生理的 pH および塩濃度を含んだ溶液中で架橋反応することで細胞を生きた状態でゲル内に内包することが可能となる。必要に応じて生体中に含まれる他のイオン、例えば、カルシウムイオン、マグネシウムイオン、カリウムイオンを添加することも可能である。細胞を混合する際のコラーゲンあるいはグリコサミノグリカン (GAG) の濃度は、0.5～5 wt% が好ましい。

20 このことは、患部の形状 (例えば、欠損した軟骨の形) をしたコラーゲン、グリコサミノグリカン、細胞組織体 (生体組織様構造を持った人工物) を作ること

1 が可能であることを意味する。また、本発明の製造法で用いる架橋剤は、細胞毒性が低いため、得られた複合体は、注射器で生体内の骨、軟骨、髄核等に注入する組織再生マトリックス用材料としても使用できる。

5 本発明の架橋複合体は、架橋密度の制御が容易であり、含水率：90～99重量%であり、コラゲナーゼで分解し、軟骨、髄核、肝臓、血管の組織再生材料として優れた物性を有している。特に、グリコサミノグリカン／ポリカチオンが50／50～1／99重量比の時に軟骨に極めて類似した物性を示す。

図面の簡単な説明

10 第1図は、ポリエチレングリコールのカルボキシル末端にスクシンイミジル基を有する四官能性架橋剤でII型コラーゲンを種々のpHで架橋した後の膨潤度を示すグラフである。第2図は、pH7.4のリン酸緩衝液中に種々の濃度の塩を添加した場合の透過率を示すグラフである。第3図は、実施例1～5および比較例1、2により得られたコラーゲン－グリコサミノグリカン複合マトリックスの
15 膨潤度を示すグラフである。第4図は、実施例6により得られたコラーゲン－グリコサミノグリカン複合マトリックスに内包された軟骨細胞を示す図面代用写真である。

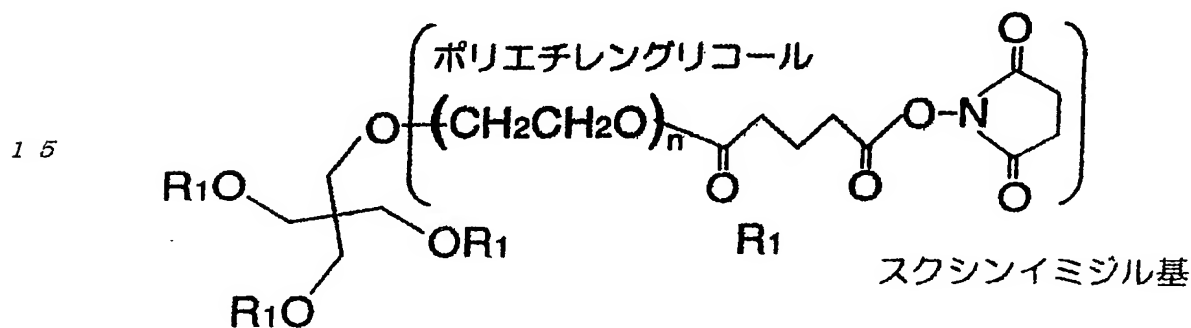
発明を実施するための最良の形態

20 本発明の合成法で使用する架橋剤の求電子性脱離基は、例えば、スクシンイミジル基、スルホスクシンイミジル基またはそれらの誘導体である。これらの架橋剤としては、ペンタエリトリールをベースとした4官能性架橋剤、エチレング

1 リコールベースの2官能性架橋剤、グリセリンベースの3官能性架橋剤、ヘキサ
グリセリンベースの8官能性架橋剤等が挙げられる。ポリエチレングリコールの
分子量は、1000以上のものが好ましいが、特に限定されない。

5 グリコサミノグリカン (GAG) (種類によらない) と複合するポリカチオン
には、コラーゲン (数10種類のタイプによらない) およびその誘導体、コラー
ゲンの変性体であるゼラチン (分子量によらない)、ポリリジン (分子量によら
ない)、キトサン (脱アセチル化度、分子量によらない) 等アミノ基を有する高
分子が含まれる。コラーゲンは、アテロ化したもの (コラーゲン末端のテロペプ
チド部分を除去したもの) を用いる方が望ましい。

10 以下、下記の化学式で示されるポリエチレングリコールのカルボキシル末端に
スクシンイミジル基を有する4官能性架橋剤 (Pentaerythritol polyethylenegly
co ether tetrasuccinimidyl glutarate) についてさらに詳しく説明する。



20 スクシンイミジル基は、pH 7以上においてエステル加水分解が進行するた
め、生理的条件下で架橋反応を行うことができる。

ポリエチレングリコールのカルボキシル末端がスクシンイミジル化されたカル
ボキシル基は、pH 7以上の雰囲気下においてスクシンイミジル基が脱離する。

1 スクシンイミジル基が脱離したカルボキシル基は、コラーゲンあるいはGAGの水酸基あるいはアミノ基と反応し、コラーゲンおよびGAGの分子間、分子内の架橋を行いゲルを形成する。

コラーゲンとGAGを含有するゲルの合成を行う場合、コラーゲンとGAGは
5 、それぞれの水溶液を混合すると、ポリオンコンプレックス（PIC）を形成する。均一なコラーゲン-GAGを含有するゲルを合成するには、PICを形成しない条件下で架橋を行う必要がある。

コラーゲンの良溶媒であるリン酸イオンを含む溶液でpH7.4の緩衝液を調製し、グリコサミノグリカンと混合すると、この条件ではコラーゲンとグリコサ
10 ミノグリカンはポリオンコンプレックスを形成せず、均一な混合溶液が得られる。

第1図には、上記の架橋剤でII型コラーゲンを種々のpHで架橋した後の膨潤度（＝（ゲル中の水の重量）／（ゲルの乾燥重量））を示す。なお、膨潤度＝含水率／（100－含水率）で示される。架橋剤の濃度が増加すると膨潤度が小さく
15 なっていくことから、架橋が進んでいることが分かる。しかしながら、架橋剤の添加量が3mM以上になるとコラーゲンの析出により不均一なゲルとなり好ましくない。よって、好ましい架橋剤濃度は0.3～3mMである。均一なゲルであれば膨潤度は特に限定されない。

pHの影響は、架橋剤が低濃度（0.3mM）の際には認められるが、それ以外
20 の条件では認められない。ゲル形成反応は、4℃では30分程度かかるのに対し、25℃、37℃では、5分以内に終了する。したがって、ゲル形成反応温度は25～37℃が好ましい。

1 第2図は、pH 7.4のリン酸緩衝液中に種々の濃度の塩を添加し、コラーゲ
ンとヒアルロン酸（C o l / H y A = 1 : 1）およびコラーゲンとコンドロイチ
ン硫酸（C o l / C h S = 1 : 1）を架橋した場合の生成物の透過率を調べた結
5 果を示している。pH 7.4の条件では、どの塩濃度でもPIC形成は認められ
ないことが分かった。すなわち、このことは、生理的条件下で反応を進めること
が可能であること、つまり、細胞を予め混合しておき、架橋反応を行うことが可
能であることを意味する。

 なお、透過率測定は、分光光度計によって500nmの光の透過率を調べるこ
とで行った。透過率100%ということは、光が完全に透過すること、均
10 一で透明な液体であることを示す。0%では光が全く透過しないということで、
ポリイオンコンプレックスのような沈殿が形成されていることを意味する。水中
でコラーゲンとグリコサミノグリカンを混合するとポリイオンコンプレックスが
形成されて透過率が0%になるが、リン酸イオンを含んだ緩衝溶液中で混合する
と混合溶液の透過率がほぼ100%であることから均一に混合していることが分
15 かる。透過率のデータは、生理的pHに加え、生理的塩濃度でも均一な混合溶液
が得られることを示している。

 コラーゲン単独の場合と同様に、GAGを添加した系でも0.3～10mMの
範囲でゲルが得られ（HyAは0.1～10mM）、添加する架橋剤の濃度の増
加に伴い、膨潤度は減少する。しかしながら、コラーゲン単独の場合と同様、架
20 橋剤の添加量が3mM以上になるとコラーゲンの析出により不均一なゲルとなり
好ましくない。ゲル形成反応は、コラーゲン-GAGの場合も37℃では5分以
内で終了する。

1 (実施例)

実施例 1

pH 7.4 の 0.1 M リン酸緩衝液 (4℃) に塩を添加し、生理的条件下 (pH 7.4、0.15 M NaCl) とし、II 型コラーゲン + 10 wt % ヒアルロン酸 (HyA) を溶解し、その後、1.0 mM の濃度の架橋剤を添加した。架橋剤として、ポリエチレングリコール (ユニット数 $n = 56$) のカルボキシル末端にスクシンイミジル基を持つペンタエリトリトールベースの 4 官能性ポリエチレングリコールを使用した。

十分に攪拌後、脱泡し、37℃ の温水中で 18 時間かけて架橋反応を行ったところ、コラーゲンとヒアルロン酸を含有するゲルが合成された。得られたコラーゲン-グリコサミノグリカン複合マトリックスの膨潤度 (= (ゲル中の水の重量) / (ゲルの乾燥重量)) は 108.8 であった。PIC 形成は認められなかった。

実施例 2

15 架橋剤の濃度を 0.3 mM とした以外は実施例 1 と同様に合成を行った。実施例 1 と同様のゲルが得られた。得られたコラーゲン-グリコサミノグリカン複合マトリックスの膨潤度は 177.6 であった。

実施例 3

架橋剤の濃度を 3 mM とした以外は実施例 1 と同様に合成を行った。実施例 1 と同様のゲルが得られた。得られたコラーゲン-グリコサミノグリカン複合マトリックスの膨潤度は 83.8 であった。

実施例 4

1 ヒアルロン酸の代わりにコンドロイチン硫酸 (ChS) を用い、1.0 mMの濃度の架橋剤を添加した以外は実施例 1 と同様に合成を行った。実施例 1 と同様のゲルが得られた。得られたコラーゲン-グリコサミノグリカン複合マトリックスの膨潤度は 95.6 であった。

5 実施例 5

 架橋剤の濃度を 0.3 mMとした以外は実施例 4 と同様に合成を行った。実施例 1 と同様のゲルが得られた。得られたコラーゲン-グリコサミノグリカン複合マトリックスの膨潤度は 110.7 であった。

 比較例 1

10 0.1 mMの濃度の架橋剤を添加した以外は実施例 4 と同様に架橋反応を行った。架橋剤の濃度が低いためゲルが形成されなかった。

 比較例 2

 1.0 mMの濃度の架橋剤を添加した以外は実施例 1 と同様に架橋反応を行った。得られたコラーゲン-グリコサミノグリカン複合マトリックスの膨潤度は 22.1 であった。各実施例と比較して架橋剤の濃度が高いため架橋剤中のポリエチレングリコール鎖の影響でコラーゲンが析出・沈殿し、不均一なゲルになった。

15 第 3 図に、実施例 1 ～ 5 および比較例 1、2 により得られたコラーゲン-グリコサミノグリカン複合マトリックスの膨潤度を示すように、架橋剤濃度が高くなるにつれ膨潤度が小さくなることが分かる。

20 実施例 6

1×10^6 cells/mL の濃度になるように調整した軟骨細胞-コラーゲン-グリコサミノグリカン (pH 7.4, 0.15M NaCl) にペンタエリ

1 トリトールベースの4官能性架橋剤を入れ、37℃で10分間インキュベートした。その結果の写真を第4図に示す。写真中の丸いものが全てゲル中に内包した軟骨細胞である。軟骨細胞は、コラーゲン-ヒアルロン酸ゲル中に均一に分散しており、軟骨細胞特有の丸い形態をしていることが明らかである。

5

10

15

20

1

請 求 の 範 囲

5

1. ポリエチレングリコールのカルボキシル末端に2個以上の求電子性脱離基を有する多官能性架橋剤によって生理的条件下で均一に架橋形成した組織再生マトリックス用グリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体。

10

2. ポリエチレングリコールのカルボキシル末端に2個以上の求電子性脱離基を有する多官能性架橋剤を用い、架橋剤濃度0.3～3mMでグリコサミノグリカンとポリカチオンとを生理的条件下で均一に架橋形成を行いグリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体を合成することを特徴とする請求の範囲第1項記載のグリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体の製造法。

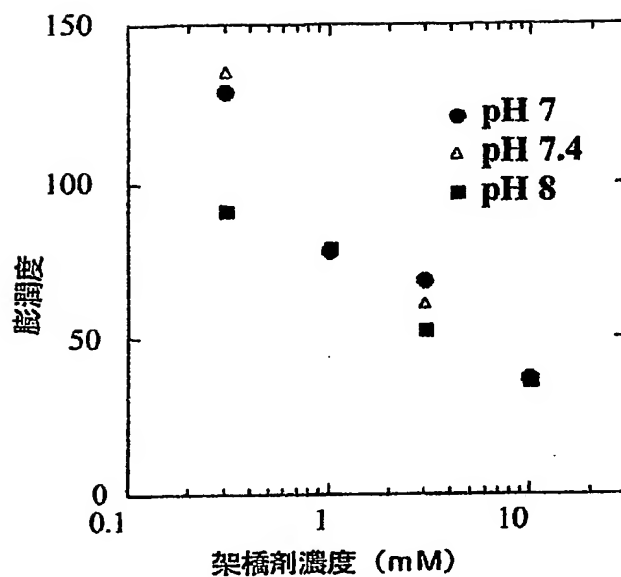
15

3. 細胞を予め混合しておき、均一に架橋反応を行うことを特徴とする請求の範囲第2項記載のグリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体の製造法。

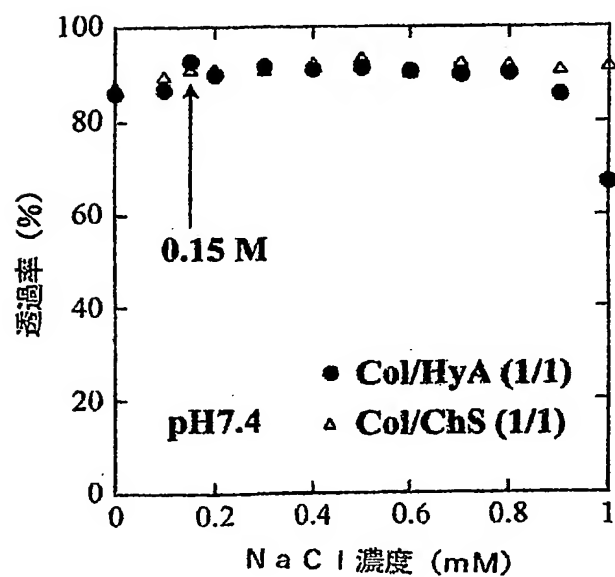
20

1/2

第 1 図

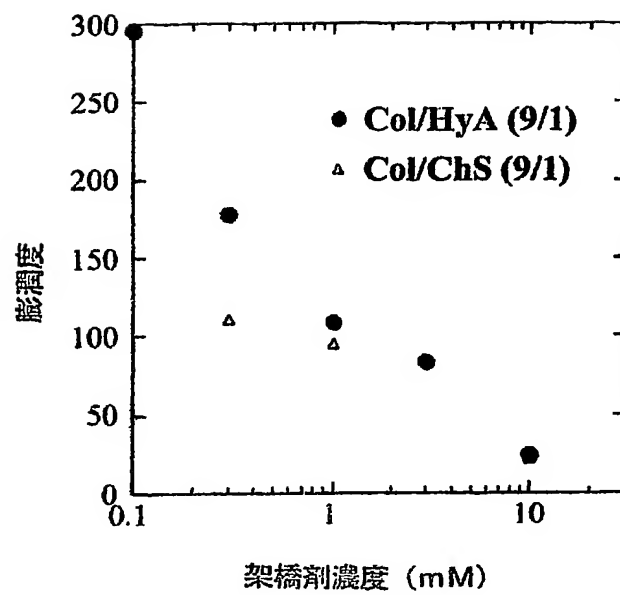


第 2 図

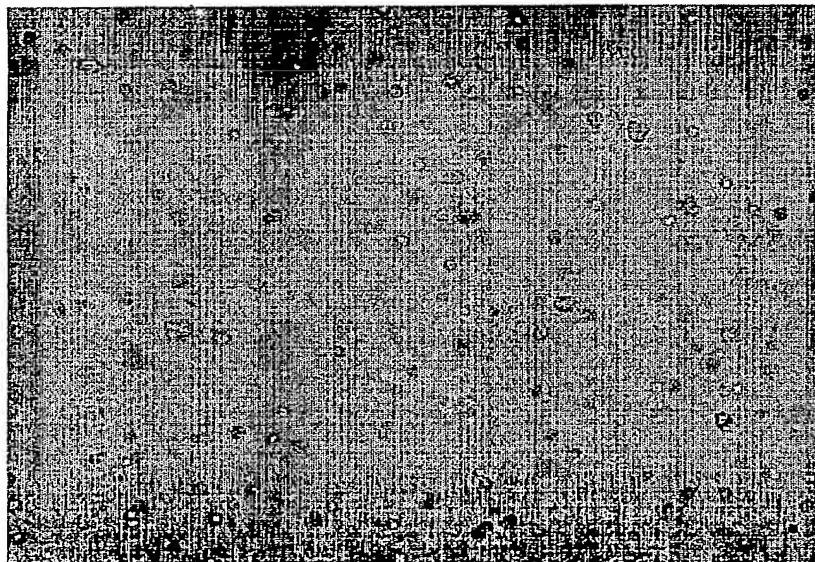


2/2

第3図



第4図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/07824

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61L27/20, 27/44, 27/50, C08G65/322, C12M3/00, C08B37/00,
A61P19/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61L27/20, 27/44, 27/50, C08G65/322, C12M3/00, C08B37/00,
A61P19/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 656215 A1 (Collagen Corp.),	1-2
Y	07 June, 1995 (07.06.95),	3
	Full text	
	& CA 2134745 A	
	& JP 07-278203 A	
	& US 5470911 A	
	& US 5476666 A	
	& US 5510121 A	
	& US 5510418 A	
Y	WO 97/22372 A1 (Collagen Corp.),	3
	26 June, 1997 (26.06.97),	
	Full text	
	& AU 9713473 A	
	& US 5752974 A	
	& EP 876166 A1	
	& JP 2000-501975 A	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
21 October, 2002 (21.10.02)

Date of mailing of the international search report
05 November, 2002 (05.11.02)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/07824

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	EP 680990 A1 (Collagen Corp.), 08 November, 1995 (08.11.95), Full text & AU 9515075 A1 & US 5475052 A & CA 2143923 A & JP 08-053548 A & AU 698233 B & MX 191754 B & DE 69519124 A	1, 2 3
A	EP 732109 A1 (Collagen Corp.), 18 September, 1996 (18.09.96), Full text & CA 2165728 A & JP 09-249751 A	1-3

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61L 27/20, 27/44, 27/50, C08G 65/322,
C12M 3/00, C08B 37/00, A61P 19/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61L 27/20, 27/44, 27/50, C08G 65/322,
C12M 3/00, C08B 37/00, A61P 19/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	EP 656215 A1 (コラーゲン・コーポレイション) 1995. 06. 07, 全文 &CA 2134745 A &JP 07-278203 A &US 5470911 A &US 5476666 A &US 5510121 A &US 5510418 A	1-2 3
Y	WO 97/22372 A1 (コラーゲン・コーポレイション) 1997. 06. 26, 全文 &AU 9713473 A &US 5752974 A &EP 876166 A1	3

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

21. 10. 02

国際調査報告の発送日

05.11.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

八原 由美子



4C

9261

電話番号 03-3581-1101 内線

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	& JP 2000-501975 A	
X Y	EP 680990 A1 (コラーゲン・コーポレイション) 1995. 11. 08, 全文 & AU 9515075 A1 & US 5475052 A & CA 2143923 A & JP 08-053548 A & AU 698233 B & MX 191754 B & DE 69519124 A	1, 2 3
A	EP 732109 A1 (コラーゲン・コーポレイション) 1996. 09. 18, 全文 & CA 2165728 A & JP 09-249751 A	1-3